

# MOLEKYLÄRPATOLOGISKA BIOMARKÖRANALYSER VID ICKE- SMÅCELLIG LUNGCANCER (NSCLC)

Riktlinjer utfärdade av Svenska Lungcancer StudieGruppen (SLUSG)

## 1. EGFR-testning vid NSCLC

### *Sammanfattning*

#### *Inför första linjens behandling*

*Som molekylärpatologisk analys av EGFR (epidermal growth factor receptor) rekommenderas mutationsanalys. Rekommendationen är att alla patienter med NSCLC (non-small cell lung cancer) – icke skivepitelcancer där medicinsk behandling kommer ifråga skall genomgå EGFR mutationsanalys. Om möjligt bör alla patienter med NSCLC genomgå EGFR mutationsanalys för att vinna erfarenhet och kunskap. Genomförd mutationsanalys skall registreras i det nationella lungcancerregistret.*

*Patienter med påvisade aktiverande EGFR-mutationer bör erbjudas behandling med EGFR-TKI (gefitinib, erlotinib eller afatinib) i första linjen.*

#### *Inför andra linjens behandling*

*Om EGFR mutationsanalys ej är utförd inför första linjens behandling bör sådan om möjligt utföras inför val av andra linjens behandling.*

*Patienter med påvisad aktiverande EGFR-mutation bör erbjudas behandling med EGFR TKI i 2:a linjen om de tidigare inte erhållit sådan behandling. Gefitinib och afatinib skall inte användas vid NSCLC utan påvisad EGFR-mutation.*

### **Vävnad för EGFR mutationsanalys**

Formalinfixerat paraffinbäddat material

- a. bronkbiopsi, mellannål, thorakoskopisk biopsi, operationsmaterial
- b. cellblock preparerat från bronkborstar, nålbiopsier, pleuravätska m.m. avsköljt i cytolyt.
- c. övrigt cytologiskt material; exempelvis från vätskebaserad cytologi eller skrapade celler från utstryksglas

### **Bakgrund**

EGFR tyrosinkinashämmarna (TKI) gefitinib och erlotinib har använts på selekterade patientmaterial med avancerad NSCLC med variabelt behandlingsvar. Med syfte att kunna prediktera svaret på behandlingen har flera randomiserade placebokontrollerade studier samt även andra typer av studier utvärderat EGFR på olika sätt; på proteinnivå med immunhistokemi (IHC), gennivå med bestämning av antalet kopior av EGFR-genen med FISH samt med påvisande av mutationer i EGFR-genen (mutationsanalys). Klinisk validitet och applicerbarhet av dessa test har emellertid varit kontroversiella.

### Första linjens behandling

I en asiatisk fas III studie (IPASS) av avancerad NSCLC (Mok, Wu et al. 2009) randomiserades 1217 patienter (icke rökare/light smokers, adenocarcinom) till gefitinib eller carboplatin/paclitaxel (C/P). Progressionsfri överlevnad (PFS) vid 12 månader var 24,9% med gefitinib och 6,7% med C/P. Av dessa var 261 patienter EGFR-mutationspositiva (EGFRmut+) och 176 EGFR-mutationsnegativa (EGFRmut-). EGFRmut+ patienter som erhöll gefitinib hade en signifikant ökad PFS jämfört med C/P (Hazard Ratio (HR) 0,48;  $P < 0,001$ ), för EGFRmut- patienter var den minskad (HR 2,85;  $P < 0,001$ ). Den japanska delen av studien redovisades vid ASCO 2009 (Ohe, Ichinose et al. 2009). Preliminär totalöverlevnad (OS) (25% analyserade) var samma för gefitinib som för C/P (HR 0,89; 95% KI 0,53-1,48). Slutsats: gefitinib visar förbättrad PFS men samma OS.

West Japan Oncology Group studerade i en fas III studie (WJTOG3405) effekten av gefitinib jämfört med cisplatin plus docetaxel i 177 kemoterapinaiva EGFRmut+ patienter med NSCLC (Mitsudomi, Morita et al. 2009). Gefitinibgruppen uppvisade signifikant längre PFS (9,2 vs. 6,3 mån; HR 0,489; 95% KI 0,336–0,710,  $p < 0,0001$ ).

North-East Japan Study Group randomiserade 230 patienter med avancerad NSCLC och aktiverande EGFR-mutation till behandling med gefitinib alternativt carboplatin/paclitaxel (Maemondo, Inoue et al. 2010). Gefitinibgruppen uppvisade en signifikant längre PFS (10,8 månader jämfört med 5,4 månader; HR 0,30; 95% KI 0,22-0,41;  $P < 0,001$ ). Ingen vinst sågs i totalöverlevnad (30,5 månader i gefitinibgruppen och 23,6 månader i kemoterapigruppen ( $p = 0,31$ )).

I en studie från Taiwan av 328 patienter med NSCLC, stadium IIIB-IV, bestämdes EGFR-mutationsstatus (Wu, Yu et al. 2008). EGFRmut+ behandlades med gefitinib och klassades sedan som kemonäva ("first line",  $n = 91$ ) eller kemobehandlade ("second line",  $n = 61$ ). Varken OS efter start av terapi eller PFS efter start av gefitinibterapi skiljde sig signifikant åt.

Liknande positiva data föreligger för erlotinib i första linjens behandling av avancerad NSCLC, där Zhou et al. i OPTIMAL-studien jämförde effekten av erlotinib med den av carboplatin/gemcitabin i första linjens behandling av patienter med avancerad NSCLC med aktiverande EGFR-mutationer. Det primära effektmåttet PFS var i median 13,1 månader för erlotinib vs. 4,6 månader för kemoterapi-armen (HR 0,16,  $p < 0,0001$ ) (Zhou, Wu et al. 2011). Erlotinib är godkänt som första linjens behandling av patienter med lokalt avancerad eller metastaserad NSCLC med EGFR-aktiverande mutationer.

För att utröna om EGFR TKIs också uppvisar aktivitet i en västerländsk population gjordes en spansk studie med screening för EGFR-mutationer i 2105 patienter med NSCLC och denna visade att EGFR-mutationspositiva (16,6%) som behandlades med erlotinib i första eller senare linjen hade en väsentligt bättre överlevnad än historiska kontroller med en PFS på 14 månader och en totalöverlevnad på 27 månader (Rosell, Moran et al. 2009).

Ytterligare en studie av effekten av erlotinib som förstalinjens behandling i en europeisk population genomfördes av Rosell och kollegor i den spanska lungcancergruppen (Rosell, Carcereny et al. 2012). I denna randomiserade fas III-studie, EURTAC-studien, jämfördes erlotinib med sedvanlig kemoterapi hos patienter med avancerad EGFR-mutationspositiv NSCLC. Totalt inkluderades 174 patienter och det primära effektmåttet PFS visade på en signifikant skillnad till fördel för erlotinib med 9,7 månader jämfört med 5,2 månader för kemoterapigruppen (HR 0,37,  $p < 0,0001$ ). Ingen skillnad i totalöverlevnad noterades mellan

studiearmarna, vilket kan förklaras med att de flesta patienterna som progredierade på standard kemoterapi också erhöll erlotinib som andralinjens behandling.

Afatinib är en EGFR TKI som utvecklats för att binda irreversibelt till EGFR. Afatinib inhiberar även HER2 och HER4 i ErbB-familjen. I en randomiserad fas III-studie (LUX-Lung 3) jämfördes afatinib med cisplatin plus pemetrexed i första linjens behandling av avancerad NSCLC med aktiverande EGFR-mutationer (Sequist, Yang et al. 2013). Behandling med afatinib resulterade i en signifikant förlängd PFS på 11,1 månader jämfört med 6,9 månader för kemoterapi (HR 0,58;  $p=0,0004$ ) och responsfrekvensen var också signifikant högre med afatinib (56 % vs. 23 %;  $p=0,001$ ).

I en annan studie jämfördes afatinib med cisplatin plus gemcitabin (LUX-Lung 6) i förstalinjen vid avancerad NSCLC med aktiverande EGFR-mutationer (Wu, Zhou et al.). I denna asiatiska studie randomiserades 364 patienter och PFS var signifikant längre med afatinib, 11,0 månader jämfört med 5,6 månader med gemcitabin och cisplatin (HR 0,28;  $p<0,0001$ ).

I en separat studie analyserade man totalöverlevnaden i de bägge studierna LUX-Lung 6 och LUX-Lung 3 (Yang, Wu et al.). Det fanns ingen överlevnadsskillnad mellan behandlingsarmarna (kemoterapi vs. afatinib) i någon av studierna. I en subgruppsanalys av olika EGFR-mutationer (exon 19 deletion, L858R) noterades däremot en signifikant förbättrad totalöverlevnad i båda studierna till fördel för afatinib hos patienter vars tumörer hade en EGFR del 19 (LUX-Lung 3: HR 0,54;  $p=0,0015$  och LUX-Lung 6: HR 0,64;  $p=0,023$ ). Någon sådan överlevnadsskillnad sågs inte hos patienter vars tumörer var EGFR L858R-positiva (LUX-Lung 3: HR 1,30;  $p=0,29$  och LUX-Lung 6: HR 1,22;  $p=0,34$ ).

### **Slutsats första linjens behandling**

EGFR mut+ patienter har bättre behandlingssvar och ökad PFS (Mitsudomi, Morita et al. 2009; Mok, Wu et al. 2009; Sequist, Yang et al. 2013). Data angående OS är fortfarande ofullständiga men ett par studier tyder på bättre OS för mut+ patienter med såväl erlotinib (Rosell, Moran et al. 2009) som gefitinib (Wu, Yu et al. 2008). I båda dessa studier var OS samma i första och andra linjen. För afatinib sågs en förbättrad OS vid EGFR del 19-positiva tumörer (Yang, Wu et al.).

Mot bakgrund av detta rekommenderas i första hand EGFR-mutationsanalys inför första linjens behandling om EGFR TKI är ett alternativ för behandling.

### **Andra och tredje linjens behandling**

Studier angående EGFR TKI antyder högre responsfrekvens och medianöverlevnad för kvinnor, icke rökare, adenocarcinom och asiater (Shepherd, Rodrigues Pereira et al. 2005). Betydelsen av mut+ och EGFR+ samt *k-ras* mut+ vid behandling med EGFR TKI har blivit belyst (Toschi and Cappuzzo 2007). Det finns få prospektiva RCT, dock en meta-analys av nästan 5000 fall (Gupta, Dastane et al. 2009) som talar för att samtliga test (immunohistokemi, FISH, mutationsanalys) signifikant predikterar för svar på gefitinib-behandling hos patienter med adenocarcinom.

Registreringsstudien för erlotinib i andralinjen, fas III-studien BR.21 ( $n = 731$ ), jämförde erlotinib med "best supportive care" (Shepherd, Rodrigues Pereira et al. 2005). Erlotinib medförde signifikant längre medianöverlevnad (6,7 vs. 4,7 månader) och PFS (2,2 vs. 1,8 månader). Slutliga biomarkördata från BR.21 har rapporterats (Zhu, da Cunha Santos et al.

2008). Behandlingsvar för mut+ var 27% och för mut- 7% ( $p=0,03$ ). Behandlingsvar för FISH+ var 21% och för FISH- 5% ( $p=0,02$ ). Skillnaden i OS för mut+ vs. mut- var inte signifikant medan FISH+ gav en signifikant överlevnadsvinst ( $HR=0,43$ ,  $p=0,004$ ). Vid multivariat analys var endast FISH+ signifikant ( $p=0,005$ ).

SATURN ( $n = 889$ ) var en fas III-studie som jämförde underhållsbehandling med erlotinib med placebo för patienter som inte progredierat på initial platinumbehandling. Erlotinib-behandlade patienter visade en signifikant ökad PFS med tydligast effekt hos EGFR mut+ patienter (Cappuzzo, Ciuleanu et al. 2009) ( $HR=0,10$ ; 95% KI 0,04-0,25,  $p<0,0001$ ) samt med en ökad OS oavsett mutationsstatus ( $HR=0,81$ ; 95% KI 0,70-0,95,  $p=0,0088$ ).

I fas III-studien ISEL studerades gefitinib, men ingen signifikant skillnad i överlevnad påvisades jämfört med placebo (Thatcher, Chang et al. 2005). I fas III-studien INTEREST med 1466 patienter, andralinjen efter platinumbaserad terapi, jämfördes gefitinib med docetaxel. Ingen signifikant skillnad i överlevnad noterades (non-inferiority-analys), men gefitinib hade en mer fördelaktig toxicitetsprofil. En subgruppsanalys visade bättre ORR för gefitinib hos mut+ ( $p=0,0361$ ), (Douillard, Shepherd et al. 2009).

I en nyligen publicerad screeningstudie från den spanska lungcancergruppen avseende 2105 patienter fann man 16 procent EGFR mut+. Dessa patienter behandlades med erlotinib och visade en median PFS på 14 mån och OS på 27 mån, vilket är betydligt bättre än kemoterapibehandlade patienter utan mutation som har en median totalöverlevnad på 12 mån (Rosell, Moran et al. 2009).

I en studie från Taiwan av 328 patienter med NSCLC, stadium IIIB eller IV, bestämdes EGFR mutationsstatus (Wu, Yu et al. 2008). Mut+ behandlades med gefitinib och klassades sedan som kemonäva (förstalinjen,  $n = 91$ ) eller kemobehandlade (andralinjen,  $n = 61$ ). Varken OS efter start av terapi eller PFS efter start av gefitinibterapi skiljde sig signifikant åt.

I fas-II-studien LUX-Lung 2 studerades effekten av afatinib hos patienter med avancerat lungadenocarcinom med EGFR-mutationer (Yang, Shih et al.). Patienterna var EGFR-TKI-naiva och hade tidigare behandlats med högst en linje kemoterapi. Primär endpoint, objektiv responsfrekvens, observerades i 79 (61%) av 129 patienter. Median PFS var 12,0 månader enligt en oberoende granskning. Två olika doser jämfördes, 40 mg respektive 50 mg dagligen, med liknande responsfrekvenser men med ökad toxicitet för den högre dosen.

### **Slutsats andra och tredje linjens behandling**

En meta-analys (Gupta, Dastane et al. 2009) talar för att immunohistokemi+, FISH+, och mut+ predikterar behandlingssvar på gefitinib för patienter med adenocarcinom. Biomarkördatabaser från BR.21 (Zhu, da Cunha Santos et al. 2008) talar starkt för en behandlingssvinst av erlotinib för FISH+ patienter i andra linjen. SATURN-studien visar signifikant ökad PFS för erlotinib, fr.a. för EGFR mut+ patienter men även för FISH+ och immunohistokemi+ patienter (Cappuzzo, Ciuleanu et al. 2009). Slutligen, mut+ patienter behandlade med erlotinib visade en OS på 27 mån, vilket är betydligt bättre än historiska kontroller (Rosell, Moran et al. 2009).

I de fall det inte genomförts i primärutredningen så rekommenderas i första hand EGFR-mutationsanalys inför andra linjens behandling om EGFR TKI är ett behandlingsalternativ. I och med molekylärbiologiska studier av nya potentiella biomarkörer i lungcancer kan man förvänta sig att det inom snar framtid tillkommer ytterligare biomarkörer som bör analyseras i

klinisk rutin. Det är därför av stor betydelse att försöka erhålla ett så rikligt diagnostiskt material som möjligt vid primärdiagnostiken.

### **Utvärdering**

Det är av stor vikt att utfallet av alla nya molekylärpatologiska analyser följs upp för att möjliggöra en retrospektiv analys av förekomsten av EGFR-mutationer, EGFR-amplifiering och EGFR IHC-uttryck i ett nationellt kliniskt material. Ett första steg mot detta är införandet av frågan huruvida EGFR-mutationsanalys är genomförd eller ej i registreringsblanketten i Svenska Lungcancerregistret. Detta skall dock byggas ut med ett ytterligare register på laboratorienivå där samtliga EGFR-analyser och utfallet av dessa registreras. Arbete med ett sådant register har inletts i samarbete med nätverket för molekylärpatologi i Sverige. Den slutgiltiga utformningen av ett sådant register är ännu ej fastställt.

### **Rebiopsi**

Vid behandling med EGFR TKI är resistensutveckling ett betydande kliniskt problem. För EGFR TKI har vissa resistensmekanismer redan identifierats, där mutation T790M i exon 20 av EGFR är vanligast och återfinns i 50% av patienter med förvärvad resistens (Pao, Miller et al. 2005). Andra exempel på förvärvade resistensmekanismer är aktivering av signalvägar via c-MET (Thomson, Buck et al. 2005), uppreglering av Insulin-like Growth Factor-1- receptorn (IGF-1R) och morfologisk omvandling till småcellig histologi (Sequist, Waltman et al. 2011). I vissa fall av tumörprogress under pågående behandling med EGFR TKI kan den uppkomna resistensmekanismen vara behandlingsbar och därför kan rebiopsi vara ett alternativ att överväga hos dessa patienter.

## Referenser

- Cappuzzo, F., T. Ciuleanu, et al. (2009). "SATURN: A double-blind, randomized, phase III study of maintenance erlotinib versus placebo following nonprogression with first-line platinum-based chemotherapy in patients with advanced NSCLC." J Clin Oncol **27**((suppl; abstr 8001)): 15s.
- Douillard, J. Y., F. A. Shepherd, et al. (2009). "Molecular Predictors of Outcome With Gefitinib and Docetaxel in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer: Data From the Randomized Phase III INTEREST Trial." J Clin Oncol.
- Gupta, R., A. M. Dastane, et al. (2009). "The predictive value of epidermal growth factor receptor tests in patients with pulmonary adenocarcinoma: review of current "best evidence" with meta-analysis." Hum Pathol **40**(3): 356-65.
- Maemondo, M., A. Inoue, et al. (2010). "Gefitinib or Chemotherapy for Non-Small-Cell Lung Cancer with Mutated EGFR." New England Journal of Medicine **362**(25): 2380-2388.
- Mitsudomi, T., S. Morita, et al. "Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial." The Lancet Oncology **11**(2): 121-128.
- Mok, T. S., Y. L. Wu, et al. (2009). "Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma." N Engl J Med **361**(10): 947-57.
- Ohe, Y., Y. Ichinose, et al. (2009). "Phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib (G) versus carboplatin/paclitaxel (C/P) in selected patients (pts) with advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) (IPASS): Evaluation of recruits in Japan." J Clin Oncol **27**(suppl; abstr 8044): 15s.
- Pao, W., V. A. Miller, et al. (2005). "Acquired Resistance of Lung Adenocarcinomas to Gefitinib or Erlotinib Is Associated with a Second Mutation in the EGFR Kinase Domain." PLoS Med **2**(3): e73.
- Rosell, R., E. Carcereny, et al. (2012). "Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial." The Lancet Oncology **13**(3): 239-246.
- Rosell, R., T. Moran, et al. (2009). "Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer." N Engl J Med **361**(10): 958-967.
- Sequist, L. V., B. A. Waltman, et al. (2011). "Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors." Science Translational Medicine **3**(75): 75ra26-75ra26.
- Sequist, L. V., J. C.-H. Yang, et al. (2013). "Phase III Study of Afatinib or Cisplatin Plus Pemetrexed in Patients With Metastatic Lung Adenocarcinoma With EGFR Mutations." Journal of Clinical Oncology **31**(27): 3327-3334.
- Shepherd, F. A., J. Rodrigues Pereira, et al. (2005). "Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer." N Engl J Med **353**(2): 123-132.
- Thatcher, N., A. Chang, et al. (2005). "Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: results from a randomised, placebo-controlled, multicentre study (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer)." Lancet **366**(9496): 1527-37.
- Thomson, S., E. Buck, et al. (2005). "Epithelial to Mesenchymal Transition Is a Determinant of Sensitivity of Non-Small-Cell Lung Carcinoma Cell Lines and Xenografts to Epidermal Growth Factor Receptor Inhibition." Cancer Research **65**(20): 9455-9462.
- Toschi, L. and F. Cappuzzo (2007). "Understanding the New Genetics of Responsiveness to

- Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors." Oncologist **12**(2): 211-220.
- Wu, J. Y., C. J. Yu, et al. (2008). "First- or second-line therapy with gefitinib produces equal survival in non-small cell lung cancer." Am J Respir Crit Care Med **178**(8): 847-53.
- Wu, Y.-L., C. Zhou, et al. "Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial." The Lancet Oncology **15**(2): 213-222.
- Yang, J. C.-H., Y.-L. Wu, et al. "Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials." The Lancet Oncology.
- Yang, J. C.-H., J.-Y. Shih, et al. "Afatinib for patients with lung adenocarcinoma and epidermal growth factor receptor mutations (LUX-Lung 2): a phase 2 trial." The Lancet Oncology **13**(5): 539-548.
- Zhou, C., Y.-L. Wu, et al. (2011). "Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study." The Lancet Oncology **12**(8): 735-742.
- Zhu, C. Q., G. da Cunha Santos, et al. (2008). "Role of KRAS and EGFR as biomarkers of response to erlotinib in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR.21." J Clin Oncol **26**(26): 4268-75.

## 2. Riktlinjer för ALK-testning vid NSCLC

**Sammanfattning:** Vid EGFR-mutationsnegativ icke skivepitel avancerad NSCLC aktuell för behandling efter första linjen **bör** ALK-test utföras. Patienter med ALK-positiv NSCLC **bör** erbjudas behandling med ALK-hämmare. Indikationen för användning av ALK-hämmare vid ALK-positiv NSCLC baseras på ett positivt fluorescens in situ hybridisering (FISH)-resultat. Tumörer kan även analyseras med immunohistokemi (IHC) för proteinuttryck av ALK. Vid positivt utfall av IHC görs FISH-analys för att verifiera resultatet. Genomförd ALK- test **bör** registreras i det nationella lungcancerregistret. För att optimera utnyttjandet av det ofta begränsade provmaterialet rekommenderas reflextestning av ALK- status redan vid diagnos hos alla patienter med avancerad icke skivepitel NSCLC utan EGFR- mutationer.

### Vävnad för ALK-analyser

#### FISH

Formalinfixerat/paraffinbäddat material: alla typer av biopsier och operationsmaterial

Cytologi: Alla typer av cytologi, tidigare färgat eller ofärgat (dock ej spritfixerat såsom PAP, htx)

#### IHC

Formalinfixerat/paraffinbäddat material: alla typer av biopsier och operationsmaterial

Cytologi: analys på cytologiskt material bör undvikas tills dess att validerad metod finns

### Bakgrund

Soda och medarbetare identifierade år 2007 fusionsgenen echinoderm microtubule associated protein-like 4 (EML4)-anaplastic lymphoma kinase (ALK) hos en undergrupp av patienter med NSCLC (Soda M 2007). Denna genetiska förändring härrör från en translokation inom kromosom 2p som leder till att den intracellulära tyrosinkinasdomänen av ALK fuserar med olika trunkerade (N-terminala) delar av EML4, vilket resulterar i konstitutivt aktivt ALK och stimulering av tumörtillväxt. Olika studier visar att 1,6% till 8,6% av patienter med NSCLC är ALK-positiva (Kwak, Bang et al. 2010). ALK-translokationer är vanligast förekommande i adenocarcinom och är typiskt frånvarande i skivepitelcancer. De flesta patienter med EML4-ALK translokationer är yngre än andra patienter med lungcancer samt aldrig rökare eller lätta rökare (Shaw, Yeap et al. 2009; Pillai and Ramalingam 2012). De är nästan alltid EGFRmut- och KRASmut-negativa.

I en fas I-studie av den lågmolekylära ALK- och c-Met-hämmaren crizotinib som omfattade 82 tidigare behandlade patienter med ALK-positiv NSCLC rapporterades tumörremissioner hos 57%, däribland en komplett respons, och 33% av patienterna uppvisade stabil sjukdom (Kwak, Bang et al. 2010). Median PFS hade inte nåtts, men andelen patienter med PFS vid 6



månader uppskattades till 72%. En uppdaterad analys av denna studie visade att 87 av 143 patienter (60,8%) hade en objektiv tumörrespons, inklusive 3 kompletta och 84 partiella responser (Camidge, Bang et al. 2012). Median PFS var 9,7 månader medan data för median totalöverlevnad ännu inte är klara. Totalöverlevnad vid 6 och 12 månader uppskattades dock till 87,9% respektive 74,8%. De vanligaste behandlingsrelaterade grad 3/4-biverkningarna var neutropeni, förhöjt ALAT, hypofosfatemi och lymfopeni. En retrospektiv analys av total överlevnad hos ALK-positiva patienter behandlade med crizotinib i andra och tredje linjen visade en tydlig överlevnadsfördel för crizotinib i jämförelse med kontrollpatienter som fått annan behandling. Medianöverlevnad hade ännu inte uppnåtts med crizotinib (14 månader nådda) men var 6 månader i kontrollgruppen (Shaw, Yeap et al. 2011).

I PROFILE 1007-studien, som var en fas III-studie i tidigare behandlade ALK-positiva patienter, jämfördes crizotinib med kemoterapi i form av pemetrexed eller docetaxel. Primär endpoint PFS uppnåddes med en median PFS på 7,7 månader med crizotinib jämfört med 3,0 mån med kemoterapi (HR 0,49,  $P < ,0001$ ) (Shaw, Kim et al. 2013). Responsfrekvens var 65% med crizotinib jämfört med 20% med kemoterapi ( $P < ,0001$ ). Till de vanligaste biverkningarna hörde synrubbningar, illamående, diarré, kräkningar, ödem och förstoppning. De flesta biverkningarna var milda till måttliga och hanterbara. När det gäller allvarliga biverkningar bör man vara uppmärksam på potentiell risk för levertoxicitet, pneumonit och förlängning av QT-intervall på EKG. Crizotinib visade en fördel gentemot både pemetrexed och docetaxel när det gäller förbättrade symptom och livskvalitet (Blackhall, Kim et al. 2014). Crizotinib godkändes av European Medical Agency (EMA) i oktober 2012 för behandling av tidigare behandlad NSCLC med indikationen: för behandling av vuxna med tidigare behandlad anaplastiskt lymfomkinas (ALK)-positiv avancerad icke småcellig lungcancer (NSCLC).

I PROFILE 1014-studien jämfördes crizotinib med kemoterapi som förstalinjens behandling i ALK-positiv icke skivepitel avancerad NSCLC (Solomon, Mok et al. 2014). Primärt effektmått, PFS, var signifikant längre med crizotinib jämfört med kemoterapi (median 10,9 månader jämfört med 7,0 månader; HR 0,45;  $P < 0,001$ ) och ORR var 74% jämfört med 45% ( $P < 0,001$ ). Median totalöverlevnad nåddes inte i någon av grupperna. Crizotinib är ännu inte godkänt som förstalinjens behandling.

Pågående och avslutade kliniska studier av andra generationens ALK-hämmare visar lovande resultat, både hos patienter som tidigare behandlats med andra ALK-hämmare och hos patienter som är naiva för ALK-hämmare. En av dem, ceritinib, har godkänts av de amerikanska läkemedelsmyndigheterna FDA som s.k. ”breakthrough therapy” hos patienter som progredierat på behandling med crizotinib.

### **Utförande och bedömning av ALK-test**

ALK-test kan utföras med FISH eller IHC. För FISH-test används nästan uteslutande en break-apart probe från Vysis (Vysis, Des Plaines, IL). Denna test är också FDA-godkänd i USA tillsammans med crizotinib som en s.k. ”companion test”, inför behandling med

crizotinib. Denna test kan göras på histologiskt eller cytologiskt material (Savic, Bode et al. 2013).

Flera studier talar dock för att både sensitivitet och specificitet för ALK-test med IHC är närmare 100% (Thunnissen, Bubendorf et al. 2012; Minca, Portier et al. 2013). Det finns flera kommersiellt tillgängliga antikroppar, såsom klon 5A4 (Abcam, Cambridge, UK), klon ALK1 (Dako, Carpinteria, Ca), klon ALK01 (Ventana 37 Medical Systems, Tuscon AZ) samt D5F3 (Cell Signalling Technology, Boston, MA). De som rekommenderas är 5A4 eller D5F3. I en studie med 300 patienter var andelen ALK-positiva 12.2% bestämt med IHC och 8.2% bestämt med FISH, och med total konkordans mellan IHC 3+/0 och FISH+/- (Yang, Kulig et al. 2012). Detta har även observerats i andra studier varför ett tvåstegs testförfarande föreslagits av flera författare (Paik, Choi et al. 2012) med IHC som screening och där alla IHC 1-3+ sedan testas med FISH.

## **FISH**

50 celler skall räknas. Provet är positivt om över hälften av cellerna är positiva, och negativt om mindre än 5 celler (<10 %) är positiva. Utfallet betraktas som oklart om 5–25 celler (10–50 %) är positiva. Då skall ytterligare en bedömning utvärdera provet. Om genomsnittet av de två bedömningarna blir >15 % positiva celler, skall provet betraktas som ALK FISH positivt (Thunnissen, Kerr et al. 2012).

## **IHC**

Infärgningen skall vara granulär och cytoplasmatisk. Intensiteten bedöms som: 0, ingen infärgning; 1, svag infärgning; 2, måttlig infärgning; 3, stark infärgning. All infärgning bedöms som ALK-positiv (Savic, Bode et al. 2013).

## **Slutsats behandling av ALK-positiva tumörer**

Flera studier, inklusive en fas I-II-studie och en fas III-studie, visar att ALK FISH-positivitet predikterar behandlingssvar och progressionsfri överlevnad på crizotinib för patienter med tidigare behandlad NSCLC, i första hand icke skivepitelcancer.

Om ALK-hämmare är ett behandlingsalternativ efter första linjens behandling rekommenderas att använda FISH-test, alternativt använda ALK IHC-test som screening, därefter ALK FISH-test på de som är IHC-positiva (1-3+).

I och med molekylärbiologiska studier av nya potentiella biomarkörer i lungcancer kan man förvänta sig att det inom snar framtid tillkommer ytterligare biomarkörer som bör analyseras i klinisk rutin. Det är därför av stor betydelse att försöka erhålla ett så rikligt diagnostiskt material som möjligt vid primärdiagnostiken.

## Utvärdering

Det är av stor vikt att utfallet av alla nya molekylärpatologiska analyser följs upp för att möjliggöra en retrospektiv analys av förekomsten av ALK- rearrangemang och ALK IHC-uttryck i ett nationellt kliniskt material. Ett första steg mot detta är införandet av frågan huruvida ALK-analys är genomförd eller ej i registreringsblanketten i Svenska Lungcancerregistret. Den slutgiltiga utformningen av ett sådant register är ännu ej fastställt.

## Referenser

- Blackhall, F., D.-W. Kim, et al. (2014). "Patient-Reported Outcomes and Quality of Life in PROFILE 1007: A Randomized Trial of Crizotinib Compared with Chemotherapy in Previously Treated Patients with ALK-Positive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer." Journal of Thoracic Oncology **9**(11): 1625-1633  
1610.1097/JTO.0000000000000318.
- Camidge, D. R., Y.-J. Bang, et al. (2012). "Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated results from a phase 1 study." The Lancet Oncology **13**(10): 1011-1019.
- Cappuzzo, F., T. Ciuleanu, et al. (2009). "SATURN: A double-blind, randomized, phase III study of maintenance erlotinib versus placebo following nonprogression with first-line platinum-based chemotherapy in patients with advanced NSCLC." J Clin Oncol **27**((suppl; abstr 8001)): 15s.
- Douillard, J. Y., F. A. Shepherd, et al. (2009). "Molecular Predictors of Outcome With Gefitinib and Docetaxel in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer: Data From the Randomized Phase III INTEREST Trial." J Clin Oncol.
- Gupta, R., A. M. Dastane, et al. (2009). "The predictive value of epidermal growth factor receptor tests in patients with pulmonary adenocarcinoma: review of current "best evidence" with meta-analysis." Hum Pathol **40**(3): 356-365.
- Kwak, E. L., Y.-J. Bang, et al. (2010). "Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer." New England Journal of Medicine **363**(18): 1693-1703.
- Maemondo, M., A. Inoue, et al. (2010). "Gefitinib or Chemotherapy for Non-Small-Cell Lung Cancer with Mutated EGFR." New England Journal of Medicine **362**(25): 2380-2388.
- Minca, E. C., B. P. Portier, et al. (2013). "ALK Status Testing in Non-Small Cell Lung Carcinoma: Correlation Between Ultrasensitive IHC and FISH." The Journal of molecular diagnostics : JMD **15**(3): 341-346.
- Mitsudomi, T., S. Morita, et al. (2009). "Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial." The Lancet Oncology **11**(2): 121-128.
- Mok, T. S., Y. L. Wu, et al. (2009). "Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma." N Engl J Med **361**(10): 947-957.
- Ohe, Y., Y. Ichinose, et al. (2009). "Phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib (G) versus carboplatin/paclitaxel (C/P) in selected patients (pts) with

- advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) (IPASS): Evaluation of recruits in Japan.  
." J Clin Oncol **27**((suppl; abstr 8044^): 15s.
- Paik, J. H., C.-M. Choi, et al. (2012). "Clinicopathologic implication of ALK rearrangement in surgically resected lung cancer: A proposal of diagnostic algorithm for ALK-rearranged adenocarcinoma." Lung cancer (Amsterdam, Netherlands) **76**(3): 403-409.
- Pao, W., V. A. Miller, et al. (2005). "Acquired Resistance of Lung Adenocarcinomas to Gefitinib or Erlotinib Is Associated with a Second Mutation in the EGFR Kinase Domain." PLoS Med **2**(3): e73.
- Pillai, R. and S. Ramalingam (2012). "The Biology and Clinical Features of Non-small Cell Lung Cancers with EML4-ALK Translocation." Current Oncology Reports **14**(2): 105-110.
- Rosell, R., E. Carcereny, et al. (2012). "Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial." The Lancet Oncology **13**(3): 239-246.
- Rosell, R., T. Moran, et al. (2009). "Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer." N Engl J Med **361**(10): 958-967.
- Rosell, R., T. Moran, et al. (2009). "Screening for Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Lung Cancer." N Engl J Med.
- Savic, S., B. Bode, et al. (2013). "Detection of ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancers on Cytological Specimens: High Accuracy of Immunocytochemistry with the 5A4 Clone." Journal of Thoracic Oncology **8**(8): 1004-1011  
1010.1097/JTO.1000b1013e3182936ca3182939.
- Sequist, L. V., B. A. Waltman, et al. (2011). "Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors." Science Translational Medicine **3**(75): 75ra26-75ra26.
- Sequist, L. V., J. C.-H. Yang, et al. (2013). "Phase III Study of Afatinib or Cisplatin Plus Pemetrexed in Patients With Metastatic Lung Adenocarcinoma With EGFR Mutations." Journal of Clinical Oncology **31**(27): 3327-3334.
- Shaw, A. T., D.-W. Kim, et al. (2013). "Crizotinib versus Chemotherapy in Advanced ALK-Positive Lung Cancer." New England Journal of Medicine **368**(25): 2385-2394.
- Shaw, A. T., B. Y. Yeap, et al. (2009). "Clinical Features and Outcome of Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Who Harbor EML4-ALK." Journal of Clinical Oncology **27**(26): 4247-4253.
- Shaw, A. T., B. Y. Yeap, et al. (2011). "Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis." The Lancet Oncology **12**(11): 1004-1012.
- Shepherd, F. A., J. Rodrigues Pereira, et al. (2005). "Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer." N Engl J Med **353**(2): 123-132.
- Soda M, C. Y., Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H (2007). "Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer." Nature **Aug 2;448(7153):561-6. Epub 2007 Jul 11.**
- Solomon, B. J., T. Mok, et al. (2014). "First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer." New England Journal of Medicine **371**(23): 2167-2177.
- Thatcher, N., A. Chang, et al. (2005). "Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: results from a

- randomised, placebo-controlled, multicentre study (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer)." Lancet **366**(9496): 1527-1537.
- Thomson, S., E. Buck, et al. (2005). "Epithelial to Mesenchymal Transition Is a Determinant of Sensitivity of Non-Small-Cell Lung Carcinoma Cell Lines and Xenografts to Epidermal Growth Factor Receptor Inhibition." Cancer Research **65**(20): 9455-9462.
- Thunnissen, E., L. Bubendorf, et al. (2012). "EML4-ALK testing in non-small cell carcinomas of the lung: a review with recommendations." Virchows Archiv **461**(3): 245-257.
- Thunnissen, E., K. M. Kerr, et al. (2012). "The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples. Practical approach of a working group." Lung cancer (Amsterdam, Netherlands) **76**(1): 1-18.
- Toschi, L. and F. Cappuzzo (2007). "Understanding the New Genetics of Responsiveness to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors." Oncologist **12**(2): 211-220.
- Wu, J. Y., C. J. Yu, et al. (2008). "First- or second-line therapy with gefitinib produces equal survival in non-small cell lung cancer." Am J Respir Crit Care Med **178**(8): 847-853.
- Wu, Y.-L., C. Zhou, et al. "Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial." The Lancet Oncology **15**(2): 213-222.
- Yang, J. C.-H., J.-Y. Shih, et al. "Afatinib for patients with lung adenocarcinoma and epidermal growth factor receptor mutations (LUX-Lung 2): a phase 2 trial." The Lancet Oncology **13**(5): 539-548.
- Yang, J. C.-H., Y.-L. Wu, et al. "Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials." The Lancet Oncology.
- Yang, P., K. Kulig, et al. (2012). "Worse Disease-Free Survival in Never-Smokers with ALK+ Lung Adenocarcinoma." Journal of Thoracic Oncology **7**(1): 90-97  
10.1097/JTO.1090b1013e31823c31825c31832.
- Zhou, C., Y.-L. Wu, et al. (2011). "Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study." The Lancet Oncology **12**(8): 735-742.
- Zhu, C. Q., G. da Cunha Santos, et al. (2008). "Role of KRAS and EGFR as biomarkers of response to erlotinib in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR.21." J Clin Oncol **26**(26): 4268-4275.